

의학석사 학위논문

소아 신장이식 환자에서 칼시뉴린 억제제의 약력학적 모니터링

Pharmacodynamic Monitoring of Calcineurin Inhibitor in Pediatric Kidney Transplantation

2014 년 2 월

서울대학교 대학원

의학과 분자유전체의학 전공

안 요 한

소아 신장이식 환자에서 칼시뉴린 억제제의 약력학적 모니터링

지도 교수 하 일 수

이 논문을 의학석사 학위논문으로 제출함

2013 년 10 월

서울대학교 대학원

의학과 분자유전체의학 전공

안 요 한

안요한의 의학석사 학위논문을 인준함

2013 년 12 월

위 원 장 (인)

부위원장 (인)

위 원 (인)

Pharmacodynamic Monitoring of Calcineurin Inhibitor in Pediatric Kidney Transplantation

by

Yo Han Ahn

A thesis submitted to the Graduate Program of
Molecular Genomic Medicine in partial fulfillment
of the requirements for the Degree of Master of
Science in Medicine at Seoul National University
College of Medicine

December 2013

Approved by Thesis Committee:

Professor _____ Chairman
Professor _____ Vice chairman
Professor _____

초 록

소아 신장이식 환자에서 칼시뉴린 억제제의 약력학적 모니터링

안 요 한

서울대학교 대학원

의학과 분자유전체의학 전공

서론: 신장이식 환자에서 면역억제제로 칼시뉴린억제제를 사용하면서 이식신의 생존율이 증가하였다. 칼시뉴린억제제를 혈중 농도 측정을 통해 조절함에도 불구하고 일부 환자들에서는 이식신장 거부 반응, 감염, 칼시뉴린억제제의 독성이 나타난다. 이 연구는 칼시뉴린억제제의 약력학적 모니터링이 면역억제 정도의 평가에 유용한지 확인하기 위하여 약동학 모니터 및 임상양상과 비교하였다.

방법: 신장이식을 받은 64명의 소아환자를 대상으로 약력학적 모니터링을 시행하였다. 환자의 단핵구에서 Nuclear factor of activated T lymphocytes (NFAT)-regulated gene (IL-2, IFN- γ , GM-

CSF) 의 발현 정도를 칼시뉴린억제제 복용직전과 복용 1.5시간 후 qPCR를 이용하여 측정하였고 residual gene expression (RGE)를 계산하였다. Cylex-ImmuKnow® assay를 통해 세포매개성 면역반응 정도를 측정하였다. 칼시뉴린억제제의 혈중 농도는 복용직전과 복용 1.5시간 후 각각 측정하였으며 이식신 거부 반응과 감염 합병증은 후향적으로 조사하였다.

결과: ImmuKnow®로 측정된 면역반응의 정도는 칼시뉴린억제제의 trough와 peak 농도와 상관관계가 없었다. 이식신 거부 반응과 감염 여부에 따른 ImmuKnow® 값의 차이는 없었지만 감염의 종류를 나누어 보았을 때 EBV 감염이 있는 환자가 감염이 없는 환자보다 ATP 수치가 높았다. (515.4 ± 149.0 ng/mL vs. 342.7 ± 155.3 ng/mL, $P=0.006$) NFAT-regulated gene의 RGE는 칼시뉴린억제제의 peak 농도와 음의 상관관계를 보였다. EBV 이외 다른 감염이 있는 환자는 IFN- γ RGE가 감염이 없는 환자보다 낮았다. (34.0 ± 7.5 % vs. 56.0 ± 30.2 %, $P<0.001$) 다른 NFAT-regulated gene의 RGE는 임상양상과 연관성이 없었다.

결론: 본 연구에서 사용한 기존의 칼시뉴린억제제의 약력학적 모니터링 방법은 감염 또는 이식장기 거부 반응의 위험성을 평가하는데 제한이 있었다. 보다 적절한 칼시뉴린억제제 약력학적 모니터링법의 개발을 위한 추가 연구가 필요하다.

주요어: 신장이식, 칼시뉴린억제제, 약력학적 모니터링

학 번: 2009 - 21842

목 차

| | |
|---------------|-----|
| 초록 | i |
| 목차 | iii |
| 표 목록 | iv |
| 서론 | 1 |
| 대상 및 방법 | 4 |
| 결과 | 8 |
| 고찰 | 16 |
| 참고문헌 | 20 |
| 초록 (영문) | 25 |

표 목 록

| | |
|--|----|
| 표 1. 환자의 임상적 특성..... | 9 |
| 표 2. 칼시뉴린억제제의 약동학적 모니터링과 약력학적 모니터링의 상관관계..... | 11 |
| 표 3. 환자의 임상상태에 따른 칼시뉴린억제제의 약동학적 모니터링과 약력학적 모니터링의 결과.... | 12 |
| 표 4. 감염의 원인에 따른 칼시뉴린억제제의 약동학적 모니터링과 약력학적 모니터링의 결과..... | 14 |

서 론

소아 신장이식 환자에서 이식신장의 생존율이 증가하면서 면역억제제의 사용 기간이 길어지고 있다. 이에 따라 감염, 이식 후 종양 발생, 면역억제제의 약물 독성의 부작용의 유병률이 증가하게 되고 이식 환자의 삶의 질에 악영향을 미치게 된다.(1-5) 특히 소아 이식환자의 경우, 이식장기의 유지와 함께 성장과 발달을 지속해야 하며 이식전 거대세포바이러스, 엡스타인바 바이러스, BK 바이러스 등 상재 바이러스의 감염력이 없는 경우가 많으므로 과도한 면역억제를 회피하여 정상적인 성장 발달을 도모하고 기회감염을 피해야 한다.(6, 7) 한편, 소아 이식환자는 면역체계가 성인에 비해 공격적이라고 여겨져 좀더 적극적인 면역억제가 요구되므로, 개개의 환자에서 적절한 면역억제가 필요하다.

Cyclosporine, tacrolimus 등의 칼시뉴린억제제는 중요한 이식 면역 억제제로 대부분의 이식 환자에서 사용되고 있다. 칼시뉴린억제제는 T 림프구 내 칼시뉴린의 활성을 억제함으로써 면역억제작용을 나타낸다. 칼시뉴린억제제의 적정 치료 농도 범위가 좁고 약물복용량에 대한 혈중농도의 상관 관계가 나쁘며, cytochrome P450을 통해 대사되는 다른 약물과의 상호작용이

나타나기 때문에, 혈중약물농도 측정을 통한 치료적 약물 농도 모니터링이 필수적이다.(8) 하지만 칼시뉴린억제제의 치료효과의 근거로 사용하고 있는 혈중 농도 측정 방법은 성인의 약동학적 특성에 따른 적정 농도를 기준으로 한 것이므로, 성인과 약물 대사 반응이 다른 소아 환자에서 이를 그대로 이용하는 것은 적절하지 않다.(9) 또한 칼시뉴린억제제의 대사와 흡수에 중요한 효소인 CYP3A와 P-glycoprotein gene의 polymorphism의 차이로 약물의 대사에 개인간의 차이가 있을 뿐 아니라 인종간의 차이가 있다고 알려져 있으므로,(10) 대상환자군에서의 검증이 필요하다고 하겠다.

한편, 칼시뉴린억제제의 혈중 농도는 면역억제 정도와 비례하지 않아(11) 약동학적 모니터링을 통해서 적절한 농도를 유지하는 중에도 이식거부반응이나 합병증을 막을 수 없는 경우가 있다. 이에 칼시뉴린억제제의 약력학적 모니터링을 시도하는 연구들이 있어왔으며 미국 Food and Drug Administration에서는 면역억제환자에서 세포면역기능을 평가할 수 있는 Cylex-ImmuKnow® (Cylex, Inc., Columbia, MD)를 2002년 허가한 바 있다.(12-14) 또한 유럽에서는 고형장기 이식 환자에서 칼시뉴린억제제의 표적이 되는 Nuclear factor of activated T cells

(NFAT)-regulated gene의 발현 정도를 평가 하는 연구들이 있다.(15-19)

하지만 소아신장이식환자에서의 칼시뉴린억제제의 약동학, 약력학적 모니터링 연구는 미미한 실정이다. 이 연구에서는 소아신장이식 환자에서 약력학적 모니터링을 시행하고, 이를 약동학 및 임상양상과 비교하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2010년 6월부터 2012년 2월까지 서울대학교병원에서 신장이식을 받은 소아환자 중 칼시뉴린억제제를 투여 받은 경우를 대상으로 하였다. 칼시뉴린억제제를 투여 받으면서 최소한 1차례 이상 칼시뉴린억제제의 약력학적 모니터링을 시행하였던 환자를 포함하였다. 본 연구는 서울대학교병원 의학연구윤리심의위원회의 승인을 받았으며 모든 환자에게 동의서를 받았다.

2. 임상분석

칼시뉴린억제제의 약력학적 모니터링을 했던 시점에서의 대상 환자의 병력, 투약력, 인구학적 정보, 혈액검사 등에 관한 정보를 전자의무기록 조회를 통해 수집하였다.

면역 억제에 따른 임상양상 변화의 추적은 1) 환자의 혈액 혹은 소변의 거대세포바이러스(cytomegalovirus, CMV), 엡스타인바 바이러스(Epstein-Barr virus, EBV), BK 바이러스 titer의 변화를 측정하였고, 2) 감염은 임상적 평가와 생화학적 검사(C-reactive

protein, 세균 배양 등)을 통해 평가하였으며, 3) 신이식의 경우 조직검사나 신장 초음파 검사, 혈중 creatinine 등으로 이식신의 상태를 평가하였다.

거부반응은 요량 감소, 발열, 이식신의 압통, 혈압상승, 혈청 blood urea nitrogen (BUN)과 creatinine 상승과 함께 신초음파 및 신생검을 통하여 진단하였다. 감염은 거대세포바이러스, 엡스타인바 바이러스, BK 바이러스 titer의 증가 또는 입원을 요하는 감염으로 정의하였다.

바이러스 감염은 각각 엡스타인바 바이러스 PCR viral load 10,000 copies/mL 이상인 경우, BK 바이러스 viral load 10 copies/mL 이상인 경우, 거대세포바이러스 항원검사(antigenemia assay)상 신장이식 전 CMV IgG 양성인 환자에서 $400/2 \times 10^5$ WBC 이상 또는 신장이식 전 CMV IgG 음성인 환자에서 $2/2 \times 10^5$ WBC 이상인 경우로 정의하였다.

3. 칼시뉴린억제제의 약동학적 모니터링

칼시뉴린억제제의 혈중 농도 분석은 칼시뉴린억제제 복용직전과 복용 1시간 30분후 시행하였으며 서울대학교병원 소아진단검사의학과에서 Chemiluminescent Microparticle

ImmunoAssay (CMIA) 법을 이용하여 측정하였다.

4. 칼시뉴린억제제의 약력학적 모니터링

1) T세포 면역능 검사

상용화되어 있는 Cylex-Immuknow[®]를 이용하여 말초혈액 단핵구 내의 CD4 T 림프구(CD4 cell)에서 ATP의 합성능을 평가하였다(12).

2) Nuclear factor of activated T cells (NFAT)-regulated gene monitoring

환자의 말초혈액 단핵구를 phorbol myristate acetate (PMA) 로 자극시킨 후 칼시뉴린억제제의 표적이 되는 nuclear factor of activated T cells (NFAT)에 의해 조절되는 유전자, 즉 interleukin-2 (IL-2), granulocyte-macrophage colony stimulating-factor (GM-CSF), interferon-gamma (IFN- γ)의 발현 정도를 real-time PCR로 측정하였다(19). NFAT-regulated gene 발현 정도는 칼시뉴린억제제 직전(C0)과 투여 1.5시간 후(C1.5) 측정되었으며 면역억제의 정도는 residual gene expression (RGE, $C1.5/C0 \times 100$)로 평가하였다(18). 3가지 유전자의 발현 정도를 평균하여 mean RGE로 표현하였다.

5. 통계분석

SPSS version 21.0 패키지를 이용하여 통계분석을 시행하였다. 나이와 기간은 중앙값과 범위, 그 외의 연속 변수는 평균 \pm 표준편차로 표시하였다. 임상소견 비교는 Student T test (연속 변수) 또는 카이제곱 검정 (비연속적 변수)를 이용하였다. P 값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 정의하였다.

결 과

1. 연구대상 환자의 특성

총 62의 소아 신장이식 환자들이 연구에 참여하였다. 남/여 비율은 35:27 였으며 연구 당시 중위연령은 12.9세 (4.1-19.2세) 였으며 신장이식기간은 중앙값은 2.9년 (0.2-10.9년)이었다. 말기신부전의 원인으로는 콩팥황폐증 23.4%, 국소성 결절성 사구체경화증 17.7%, 역류성 신장병증 17.7% 였으며 신장이식 후 면역억제제는 칼시뉴린억제제 및 mycophenolate mofetil (MMF) 사용이 60.9%로 가장 흔하였다. 총 128회 칼시뉴린억제제의 혈중농도를 분석하였으며 Immuknow 99회, NFAT-regulated gene 모니터링 95회 시행되었다. 검사 당시 대상환자가 안정적인 상태를 유지한 경우는 104회, 이식거부반응을 보인 경우는 8회, 감염의 증거가 있는 경우는 16회였다. (Table 1) 이식거부반응을 보인 환자들의 나이는 안정된 환자들의 나이보다 의미 있게 많았으며 (15.4 ± 3.4 세 vs. 12.4 ± 3.0 세, $P=0.037$) 감염이 있는 환자들의 나이와 안정된 환자들의 나이는 보다 적었으나 의미 있는 차이는 없었다. (10.8 ± 4.0 세 vs. 12.4 ± 2.9 세, $P=0.051$)

Table 1. Characteristics of patients (n=62)

| | |
|--|-----------------|
| Gender, M:F | 35:27 |
| Age (years) | 12.9 (4.1-19.2) |
| Time after kidney transplantation (years) | 2.9 (0.2-10.9) |
| Cause of ESRD, n (%) | |
| NPHP/MCKD | 15 (24.2) |
| Focal segmental glomerular sclerosis | 11 (17.7) |
| Reflux nephropathy | 11 (17.7) |
| Renal hypoplasia/dysplasia | 7 (11.3) |
| Unknown | 5 (8.1) |
| Others | 13 (21.0) |
| Number of drug monitoring | 128 |
| Age at drug monitoring (years) | 12.9 (4.1-19.2) |
| Immunosuppressant regimen, n (%) | |
| CNI + MMF | 78 (60.9) |
| CNI + MMF + steroid | 31 (24.2) |
| CNI + steroid | 11 (8.6) |
| CNI only | 6 (4.7) |
| CNI + azathioprine | 2 (1.6) |
| Infectious complications at drug monitoring, n (%) | |
| EBV infection | 8 (6.1) |
| CMV infection | 2 (1.5) |
| Viral gastroenteritis | 3 (2.3) |
| Upper respiratory infection | 3 (2.3) |
| Rejections at drug monitoring, n (%) | |
| Acute T cell-mediated type | 4 (3.1) |
| Acute antibody-mediated type or mixed | 4 (3.1) |

ESRD, end stage renal disease; NPHP, nephronophthisis; MCKD, medullary cystic kidney disease; CNI, calcineurin inhibitor; MMF, mycophenolate mofetil; EBV, Epstein-Barr virus; CMV, cytomegalovirus

2. 혈중약물농도와 약력학적 모니터링 비교

칼시뉴린억제제 복용 직전/1.5시간 후 혈중약물농도와 ATP 합성능 (ng/mL) 을 비교시 상관관계가 없는 것으로 나타났다. ($r^2=0.001$, $P=0.757$, $r^2=0.021$, $P=0.167$) 칼시뉴린억제제 복용 직전/1.5시간후 혈중약물농도와 NFAT-related gene의 RGE (%) 에서는 GM-CSF RGE가 복용직전/1.5시간 후 혈중약물농도와 의미 있는 상관관계가 있었으며 ($r^2=0.046$, $P=0.037$, $r^2=0.066$, $P=0.015$) 평균 RGE는 1.5시간 후 혈중약물농도와 상관관계가 있었다. ($r^2=0.060$, $P=0.019$) (Table 2) ATP 합성능과 NFAT-related gene의 mean RGE 사이에는 의미 있는 상관관계가 없었다. ($r^2=0.020$, $P=0.237$)

3. 약력학적 모니터링과 임상지표의 관계

감염여부에 따라 ATP 합성능의 차이를 비교해 본 결과, 감염 시 412.1 ± 168.0 ng/mL, 안정 시 344.5 ± 152.9 ng/mL로 의미 있는 차이가 없었다. ($P=0.148$) 감염여부에 따라 NFAT-related gene의 RGE를 비교 했을 때도 의미 있는 차이를 없었다. (Table 3)

감염의 종류를 EBV 감염과 EBV 이외 다른 감염으로 구분하여 결과를 분석해 보았을 때는, EBV 감염시 환자의 나이가 감염이

Table 2. Correlation between pharmacokinetic and pharmacodynamic monitoring of calcineurin inhibitor

| | Tacrolimus through level | Tacrolimus 1.5 hr level |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| ImmuKnow | $r^2 = 0.001, P = 0.757$ | $r^2 = 0.021, P = 0.167$ |
| IL-2 RGE | $r^2 = 0.001, P = 0.764$ | $r^2 = 0.021, P = 0.174$ |
| IFN- γ RGE | $r^2 = 0.003, P = 0.620$ | $r^2 = 0.041, P = 0.055$ |
| GM-CSF RGE | $r^2 = 0.046, P = 0.037$ | $r^2 = 0.066, P = 0.015$ |
| Mean RGE | $r^2 = 0.011, P = 0.312$ | $r^2 = 0.060, P = 0.019$ |
| RGE, residual gene expression | | |

Table 3. Results of pharmacokinetic and pharmacodynamic monitoring according to the clinical status

| | Stable (n=104) | Infection (n=16) | Rejection (n=8) |
|----------------------------|-------------------|---------------------|--------------------|
| Age (years) | 12.4 ± 2.9 | 10.8 ± 4.0 | 14.5 ± 2.3* |
| Duration after TPL (years) | 3.6 ± 2.4 | 3.0 ± 2.3 | 3.8 ± 2.3 |
| Gender, M:F | 56:48 | 11:5 | 6:2 |
| ImmuKnow (ng/mL) | 344.5 ± 152.9 | 412.1 ± 168.0 | 320.2 ± 211.0 |
| IL-2 RGE (%) | 50.9 ± 62.1 | 23.8 ± 28.0 | 46.4 ± 22.5 |
| IFN- γ RGE (%) | 56.5 ± 29.4 | 50.9 ± 29.7 | 52.9 ± 45.1 |
| GM-CSF RGE (%) | 54.7 ± 64.4 | 41.5 ± 37.8 | 32.2 ± 27.1 |
| Mean RGE (%) | 54.0 ± 42.2 | 38.7 ± 27.0 | 43.8 ± 28.7 |
| Tac trough level (ng/mL) | 4.27 ± 1.60 | 4.29 ± 1.62 | 4.34 ± 1.60 |
| Tac 1.5 hr level (ng/mL) | 12.35 ± 4.3 | 14.08 ± 6.69 | 10.99 ± 6.66 |
| Tac dose (mg/BSA) | 3.12 ± 1.42 | 2.84 ± 1.50 | 2.90 ± 0.94 |
| Tac 1.5hr level/dose | 4.62 ± 2.52 | 5.86 ± 3.18 | 3.93 ± 2.11 |

* $P < 0.05$ compared with stable group

TPL, transplantation; IL-2, interleukin-2; RGE, residual gene expression; IFN- γ , interferon-gamma; GM-CSF, granulocyte-macrophage colony stimulating-factor; Tac, tacrolimus

없는 환자의 나이보다 의미 있게 적었으며 (8.2 ± 2.6 세 vs. 12.6 ± 2.9 세, $P < 0.001$) ATP 합성능은 EBV 감염이 있는 환자가 감염이 없는 환자보다 높았다. (515.4 ± 149.0 ng/mL vs. 342.7 ± 155.3 ng/mL, $P = 0.006$) EBV 이외 다른 감염이 있는 환자는 IFN- γ RGE가 감염이 없는 환자보다 낮았다. (34.0 ± 7.5 % vs. 56.0 ± 30.2 %, $P < 0.001$) (Table 4)

이식거부반응에 따라 ATP 합성능을 비교해 본 결과, 거부반응 시 320.2 ± 211.0 ng/mL, 안정 시 344.5 ± 152.9 ng/mL로 의미 있는 차이는 없었다. 이식거부반응에 따른 NFAT-related gene의 RGE 비교 시는 IL-2, INF-r, GM-CSF, mean RGE 모두 의미 있는 차이는 없었다. (Table 3)

4. 혈중약물농도와 임상지표의 관계

감염여부, 이식거부반응 여부에 따라 칼시뉴린억제제의 혈중약물농도는 약물복용 직전, 1.5시간 후 혈중약물농도가 모두 차이가 없었다. 1.5시간 후 혈중약물농도/약물용량 비는 감염 시 5.86 ± 3.18 로 안정시 4.62 ± 2.52 보다 높았으나 의미 있는 차이는 없었다. ($P = 0.082$) (Table 3)

감염의 종류에 따라 분석해 보았을 때, EBV 감염시 1.5시간 후

Table 4. Results of pharmacokinetic and pharmacodynamic monitoring according to the causes of infection

| | Other infection (n=7) | No infection (n=113) | EBV infection (n=8) |
|----------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|
| Age (years) | 13.3 ± 3.9 | 12.6 ± 2.9 | 8.2 ± 2.6** |
| Duration after TPL (years) | 2.3 ± 1.7 | 3.7 ± 2.5 | 2.7 ± 1.2 |
| Gender, M:F | 5:2 | 63:50 | 5:3 |
| ImmuKnow (ng/mL) | 283.0 ± 101.7 | 342.7 ± 155.3 | 515.4 ± 149.0* |
| IL-2 RGE (%) | 13.1 ± 18.0 | 50.2 ± 59.7 | 34.4 ± 36.7 |
| IFN- γ RGE (%) | 34.0 ± 7.5** | 56.0 ± 30.2 | 69.3 ± 36.7 |
| GM-CSF RGE (%) | 33.7 ± 33.0 | 52.5 ± 62.5 | 57.3 ± 41.1 |
| Mean RGE (%) | 26.9 ± 16.6 | 52.9 ± 41.2 | 53.7 ± 32.0 |
| Tac trough level (ng/mL) | 4.73 ± 2.35 | 4.27 ± 1.59 | 3.94 ± 0.76 |
| Tac 1.5 hr level (ng/mL) | 15.23 ± 7.05 | 12.20 ± 4.51 | 13.93 ± 6.75 |
| Tac dose (mg/BSA) | 3.41 ± 1.73 | 3.09 ± 1.40 | 2.55 ± 1.20 |
| Tac 1.5hr level/dose | 4.92 ± 1.87 | 4.58 ± 2.48 | 6.67 ± 4.13* |

* $P < 0.05$ compared with no infection group, ** $P < 0.001$ compared with no infection group

TPL, transplantation; IL-2, interleukin-2; RGE, residual gene expression; IFN- γ , interferon-gamma; GM-CSF, granulocyte-macrophage colony stimulating-factor; Tac, tacrolimus; EBV, Epstein-Barr virus

혈중약물농도/약물용량 비가 6.67 ± 4.13 으로 감염이 없는
경우의 4.58 ± 2.48 보다 의미 있게 높았다. ($P=0.031$) (Table
4)

고 찰

이 연구는 소아신장이식 환자를 대상으로 하여 칼시뉴린억제제의 약동학, 약력학적 모니터링의 임상적 효용성을 알아본 연구로, 칼시뉴린억제제의 약력학적 모니터링 결과는 감염 또는 이식 거부 반응 여부에 따라 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

2002년 미국 Food and Drug Administration의 공인을 받은 Cylex-Immuknow®는 mitogenc simulation에 반응하는 CD4+ T cell이 생산하는 ATP 양을 측정하여 T-helper 림프구의 능력을 평가할 수 있는 도구이다.(13, 14, 20) ATP (ng/mL)의 양에 따라 강한 면역 반응 (≥ 525), 중등도의 면역 반응 (226-524), 약한 면역 반응 (≤ 225)으로 나누어 보고하고 있다. 504명의 고형장이식 환자를 대상으로 한 다기관 연구에서는 이식신 거부 반응이 있는 경우 ATP 수치가 높았으며 감염이 있는 환자에서는 ATP 수치가 낮다고 보고하였다.(12) 하지만 메타분석에서는 감염 예측에 대한 ATP의 민감도와 특이도가 낮고 거부 반응에 대한 특이도는 높으나 민감도가 낮으며 각각의 연구마다 결과의 차이가 많이 나서

고형 장기 이식 환자에서 감염 또는 거부 반응의 위험성을 평가하는데 충분한 증거가 없다고 하였다.(21) ATP를 반복적으로 측정한 연구에서는 개개인의 차이가 심하여 각 개인의 반복적인 ATP 측정이 감염 또는 이식거부반응의 위험성을 예측하는데 도움이 될 수 있다고 주장하였다.(20)

본 연구에서는 감염의 종류를 나누어 보았을 때 EBV 감염이 있는 환자에서 ATP 수치가 높은 것을 확인하였다. 이전 한 연구에서 12세 이하 소아환자에서 EBV 감염시 ImmuKnow 검사의 ATP 수치가 상대적으로 높았으며 소아신장이식환자를 대상으로 한 또 다른 연구에서도 비슷한 양상을 보였다.(22, 23) 이전 연구의 저자들은 EBV-trasformed B 세포가 CD4 T 세포를 자극하여 EBV 감염시 ATP 수치가 높아졌을 것이라고 설명하였다.(23)

칼시뉴린억제제 복용 이후 NFAT-regulated gene의 발현 감소 정도는 면역억제의 정도를 반영할 수 있다.(19, 24) 이전 연구들은 통해 소아 신장이식 환자에서 NFAT-regulated gene의 발현 감소가 감염의 위험요인이 된다고 알려져 있다.(16, 18) 칼시뉴린억제제의 용량과 혈중농도가 다르지 않은 경우에도 감염 여부 에 따른

NFAT-regulated gene의 발현 정도의 차이가 있었다.(18) 한 연구에서는 신장이식 후 피부암이 생긴 환자에서 NFAT-regulated gene 발현 정도가 낮았다고 보고하였다.(17, 25) 신장이식 환자뿐만 아니라 소아 간이식 환자에서도 NFAT-regulated gene 발현 정도를 이용한 칼시뉴린억제제의 약력학적 모니터링이 유효한 것으로 보고하였다.(26)

본 연구에서는 감염 또는 거부반응과 NFAT-regulated gene의 발현 정도가 연관성이 없는 것으로 나타났다. 하지만 감염의 종류를 나누어 보았을 때 IFN- γ RGE이 EBV 이외 다른 감염시 낮은 것을 확인하였다. 이는 이전 연구들에서는 반복적인 감염이 있는 환자 와 없는 환자를 구별하였고 감염의 종류가 주로 바이러스 감염, 폐렴, 인후염, 신우신염 등이었는데 비해(16) 본 연구에서는 연구 당시의 감염 상태를 평가하였고 감염의 종류가 주로 EBV, CMV 감염이었다. 연구 방법과 환자군의 차이가 다른 결과를 유발하였을 것이다.

이 연구는 소아를 대상으로 한 후향적 연구이며 칼시뉴린억제제의 약력학적 모니터링이 감염 또는 이식장기 거부 반응의 위험성을

평가하는데 제한이 있었다. 칼시뉴린억제제의 약력학적 모니터링의
유효성을 확인하기 위해서는 대규모의 환자를 대상으로 하여 반복
적인 측정을 통해 평가하는 전향적 연구가 필요할 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med*. 2003 Dec 11;349(24):2326-33.
2. Opelz G, Dohler B. Lymphomas after solid organ transplantation: a collaborative transplant study report. *Am J Transplant*. 2004 Feb;4(2):222-30.
3. Farrugia D, Cheshire J, Mahboob S, Begaj I, Khosla S, Ray D, et al. Mortality after pediatric kidney transplantation in England - a population-based cohort study. *Pediatr Transplant*. 2013 Oct 18.
4. Smith JM, Martz K, Blydt-Hansen TD. Pediatric kidney transplant practice patterns and outcome benchmarks, 1987-2010: a report of the North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies. *Pediatr Transplant*. 2013 Mar;17(2):149-57.
5. Harambat J, Ranchin B, Bertholet-Thomas A, Mestrallet G, Bacchetta J, Badet L, et al. Long-term critical issues in pediatric renal transplant recipients: a single-center experience. *Transpl Int*. 2013 Feb;26(2):154-61.
6. Comoli P, Ginevri F. Monitoring and managing viral infections in

pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol*. 2012 May;27(5):705-17.

7. Karuthu S, Blumberg EA. Common infections in kidney transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012 Dec;7(12):2058-70.

8. Press RR, de Fijter JW, Guchelaar HJ. Individualizing calcineurin inhibitor therapy in renal transplantation--current limitations and perspectives. *Curr Pharm Des*. 2010;16(2):176-86.

9. Wallemacq PE, Verbeeck RK. Comparative clinical pharmacokinetics of tacrolimus in paediatric and adult patients. *Clin Pharmacokinet*. 2001;40(4):283-95.

10. Mancinelli LM, Frassetto L, Floren LC, Dressler D, Carrier S, Bekersky I, et al. The pharmacokinetics and metabolic disposition of tacrolimus: a comparison across ethnic groups. *Clin Pharmacol Ther*. 2001 Jan;69(1):24-31.

11. Koefoed-Nielsen PB, Gesualdo MB, Poulsen JH, Jorgensen KA. Blood tacrolimus levels and calcineurin phosphatase activity early after renal transplantation. *Am J Transplant*. 2002 Feb;2(2):173-8.

12. Kowalski RJ, Post DR, Mannon RB, Sebastian A, Wright HI, Sigle G, et al. Assessing relative risks of infection and rejection: a meta-analysis using an immune function assay. *Transplantation*. 2006 Sep 15;82(5):663-8.

13. Israeli M, Klein T, Sredni B, Avitzur Y, Mor E, Bar-Nathen N, et al. ImmuKnow: a new parameter in immune monitoring of pediatric liver transplantation recipients. *Liver Transpl.* 2008 Jun;14(6):893-8.
14. Huskey J, Gralla J, Wiseman AC. Single time point immune function assay (ImmuKnow) testing does not aid in the prediction of future opportunistic infections or acute rejection. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011 Feb;6(2):423-9.
15. Billing H, Breil T, Schmidt J, Tonshoff B, Schmitt CP, Giese T, et al. Pharmacodynamic monitoring by residual NFAT-regulated gene expression in stable pediatric liver transplant recipients. *Pediatr Transplant.* 2012 Mar;16(2):187-94.
16. Billing H, Giese T, Sommerer C, Zeier M, Feneberg R, Meuer S, et al. Pharmacodynamic monitoring of cyclosporine A by NFAT-regulated gene expression and the relationship with infectious complications in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Transplant.* 2010 Nov;14(7):844-51.
17. Giese T, Sommerer C, Zeier M, Meuer S. Monitoring immunosuppression with measures of NFAT decreases cancer incidence. *Clin Immunol.* 2009 Sep;132(3):305-11.
18. Sommerer C, Konstandin M, Dengler T, Schmidt J, Meuer S, Zeier

M, et al. Pharmacodynamic monitoring of cyclosporine a in renal allograft recipients shows a quantitative relationship between immunosuppression and the occurrence of recurrent infections and malignancies. *Transplantation*. 2006 Nov 27;82(10):1280-5.

19. Giese T, Zeier M, Meuer S. Analysis of NFAT-regulated gene expression in vivo: a novel perspective for optimal individualized doses of calcineurin inhibitors. *Nephrol Dial Transplant*. 2004 Jul;19 Suppl 4:iv55-60.

20. Schulz-Juergensen S, Burdelski MM, Oellerich M, Brandhorst G. Intracellular ATP production in CD4+ T cells as a predictor for infection and allograft rejection in trough-level guided pediatric liver transplant recipients under calcineurin-inhibitor therapy. *Ther Drug Monit*. 2012 Feb;34(1):4-10.

21. Ling X, Xiong J, Liang W, Schroder PM, Wu L, Ju W, et al. Can immune cell function assay identify patients at risk of infection or rejection? A meta-analysis. *Transplantation*. 2012 Apr 15;93(7):737-43.

22. Vyas S, Roberti I. Lymphocyte ATP immune cell function assay in pediatric renal transplants: is it useful? *Transplant Proc*. 2011 Dec;43(10):3675-8.

23. Ben-Youssef R, Baron PW, Sahney S, Weissman J, Baqai W, Franco E, et al. The impact of intercurrent EBV infection on ATP levels in CD4+ T

cells of pediatric kidney transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2009 Nov;13(7):851-5.

24. Sommerer C, Giese T, Schmidt J, Meuer S, Zeier M. Ciclosporin A tapering monitored by NFAT-regulated gene expression: a new concept of individual immunosuppression. *Transplantation*. 2008 Jan 15;85(1):15-21.

25. Sommerer C, Hartschuh W, Enk A, Meuer S, Zeier M, Giese T. Pharmacodynamic immune monitoring of NFAT-regulated genes predicts skin cancer in elderly long-term renal transplant recipients. *Clin Transplant*. 2008 Sep-Oct;22(5):549-54.

26. Zahn A, Schott N, Hinz U, Stremmel W, Schmidt J, Ganten T, et al. Immunomonitoring of nuclear factor of activated T cells-regulated gene expression: the first clinical trial in liver allograft recipients. *Liver Transpl*. 2011 Apr;17(4):466-73.

Abstract

Introduction: Introduction of calcineurin inhibitor (CNI) as immunosuppressant has markedly improved the outcome of kidney transplantation. While therapeutic drug monitoring (TDM) is used to adjust the dosage of CNI, some patients, especially children, still suffer from rejection or infection and CNI toxicity. This study was to assess the adequacy of immunosuppression using pharmacodynamic monitoring.

Methods: Pharmacodynamic monitoring was done for 64 pediatric kidney allograft recipients. Expression of nuclear factor of activated T lymphocytes (NFAT)-regulated genes in patients' mononuclear cells was measured after activation, by qPCR of IL-2, IFN- γ , and GM-CSF before (trough) and 1.5hr (peak) after ingestion of tacrolimus and the residual gene expression (RGE) was calculated. Global immune response was assessed by Cylex-ImmuKnow® assay. Trough and peak levels of tacrolimus were measured and clinical findings of rejection episodes and infectious complications were reviewed retrospectively.

Results: Global immune response measured by ImmuKnow® was not correlated with trough and peak levels of tacrolimus. ATP level of

ImmuKnow® was higher in patients with EBV infection than in those without infectious complications (515.4 ± 149.0 ng/mL vs. 342.7 ± 155.3 ng/mL, $P=0.006$). Mean RGE of the three NFAT-regulated genes showed negative correlation with tacrolimus peak levels. RGE of IFN- γ was lower in patients with other infections except EBV than in those without infectious complications (34.0 ± 7.5 % vs. 56.0 ± 30.2 %, $P<0.001$). RGE of IL-2 and GM-CSF was not significantly correlated with clinical manifestations.

Conclusions: RGE of NFAT-regulated genes and ImmuKnow® did not show significant correlation with clinical manifestation of under- or over-suppression of immune function in pediatric kidney allograft recipients. Further studies are required to develop optimal pharmacodynamic monitoring for pediatric kidney transplantation recipients.

Keywords: Kidney transplantation, Calcineurin inhibitor, Pharmacodynamic monitoring

Student number: 2009 – 21842